



22 a 24 de Setembro de 2011 – Universidade Federal de Viçosa – Viçosa/MG

3.9. Efeito do óleo de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) no crescimento radicular de *Lactuca sativa*¹

Carolina Mastella Botelho², Larissa Fonseca Andrade Vieira³, Taline Miranda Praça⁴,
Bruno Galvêias Laviola⁵, Marcel José Palmieri⁶, Milene Miranda Praça Fontes⁷

¹Parte do trabalho de Iniciação Científica do primeiro autor.

²Estudante de graduação em Farmácia, CCA/UFES.

^{3,7}Professoras do Departamento de Produção Vegetal, CCA/UFES.

⁴Estudante de pós-graduação, UFV.

⁵Pesquisador da Embrapa Agroenergia.

⁶Mestrando em Genética e Melhoramento da UFLA.

Resumo: No presente estudo nós avaliamos o efeito do óleo extraído das sementes de *Jatropha curcas* no crescimento radicular de alface e o índice mitótico das raízes. Três diferentes concentrações de óleo foram avaliadas. Para determinação do índice mitótico as lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento e coradas com orceína acética 2%. Para todos os parâmetros avaliados foi feito análise de variância e testes de média a fim de comparar os tratamentos com o controle. Diferentes concentrações do óleo proporcionaram resultados estatisticamente diferentes do controle, mas estatisticamente iguais entre si, tanto para o crescimento radicular quanto para o índice mitótico. Os dados do presente trabalho podem auxiliar nos testes de toxicidade das sementes de diferentes variedades que estão sendo desenvolvidas de pinhão manso.

Palavras-chave: bioensaios vegetais, ciclo celular, *Lactuca sativa*, pinhão manso

Effect of physic nut oil (*Jatropha curcas* L.) on root growth of *Lactuca sativa*

Abstract: In this study we evaluated the effect of the oil extracted from seeds of *Jatropha curcas* on root growth of lettuce roots and the mitotic index. Three different concentrations of oil were evaluated. To determine the mitotic index slides were prepared by squash and stained with 2% acetic orcein. For all evaluated parameters were realized variance analysis and mean tests to compare treatments with control. Different concentrations of oil provided statistically different from control, but statistically equal to each other, both for root growth and to mitotic index. The data from this study may help in the toxicity seeds testing of different varieties that are being developed from physic nut.

Key Words: cell cycle, *Lactuca sativa*, physic nut, plant bioassays

Introdução

Os bioensaios vegetais com plantas superiores têm sido amplamente utilizados para avaliar o efeito biológico de substâncias simples ou compostos complexos nos organismos. A vantagem da utilização de plantas como modelos de estudo é que o teste é barato, rápido e fácil de ser conduzido e é tão sensível como outros testes utilizados para o mesmo fim. A

partir da avaliação de alterações no ciclo celular é possível verificar se o resíduo estudado é genotóxico, mutagênico ou carcinogênico (Leme e Marin-Morales, 2009). O modelo *Lactuca sativa* é comumente utilizado nos testes de germinação. Adicionalmente já foi demonstrado que ele é apropriado para realizar tanto testes de germinação, seguido do crescimento radicular, como testes citogenéticos (Andrade et al., 2010).

O Pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) é uma oleaginosa potencial para o Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel. As sementes dessa planta podem gerar o óleo para o biocombustível e a torta resultante da extração do óleo pode ser usada como suplemento protéico altamente nutritivo em dietas de ruminantes e monogástricos (Mendonça e Laviola, 2009). No entanto, o uso da torta para alimentar animais ainda não é possível devido à presença de fatores tóxicos, alergênicos e antinutricionais. Os ésteres de forbol são os principais componentes tóxicos presentes na torta do pinhão-manso e quando ingeridos podem agir no organismo de forma aguda (resposta inflamatória intensa) ou crônica (indução de tumor). Por ser lipossolúvel, grande parte dos ésteres de forbol é extraída juntamente com o óleo. No entanto, essas substâncias permanecem também na torta devido ao fato da extração mecânica não retirar totalmente o óleo dos grãos (Mendonça e Laviola, 2009).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do óleo de pinhão manso no crescimento radicular de *Lactuca sativa*, como forma de inferir no grau de toxicidade dos componentes presentes no óleo e na utilização da torta para alimentação animal.

Material e Métodos

Sementes de alface, variedade Grande Lagos Americano (Isla Sementes), foram germinadas em placas de petri, cobertas com papel alumínio, a 24°C, em câmara de germinação, na presença 5 mL de água destilada. Quando as raízes atingiram aproximadamente 0.5 cm de comprimento, 30 sementes germinadas foram transferidas para cada placa de petri e submetidas ao tratamento.

Três diferentes concentrações de óleo de pinhão manso (22.5%, 45%, e 67.5%) foram avaliadas. Como controle negativo algumas placas de petri foram mantidas com água destilada até o fim do experimento. O experimento foi montado em DBC com três blocos. Cada bloco foi proveniente de três placas de petri com 30 sementes cada. O comprimento das raízes foi obtido antes e após 48 horas de tratamento com auxílio de um paquímetro digital. O crescimento das raízes foi calculado pela diferença do tamanho da raiz antes e após as 48 horas de tratamento.

Para determinação do índice mitótico as lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento e coradas com orceína acética 2%. Para cada tratamento foram avaliadas em torno de 10.000 células meristemáticas, proveniente de 9 raízes (uma de cada parcela experimental). O índice mitótico foi obtido dividindo o número de células em divisão (prófase, metáfase, anáfase e telófase) pelo total de células avaliadas em cada tratamento.

Para todos os parâmetros avaliados foi feita análise de variância e testes de média a fim de comparar os tratamentos avaliados com o controle. Foi empregado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis a 5% de significância.

Resultados e Discussão

As sementes de alface tratadas com diferentes concentrações do óleo de pinhão manso apresentaram diferenças na taxa de germinação quando comparadas ao teste com 0% de óleo. O mesmo padrão foi observado para o índice mitótico. A análise de variância realizada para o crescimento radicular e para o índice mitótico revelou diferenças significativas entre os tratamentos e o controle (dados não mostrados). No entanto, os diferentes tratamentos não diferenciaram entre si pelo teste Kruskal-Wallis ($p < 0.05$)

(Tabela 1). De acordo com Vadilho et al. (2004) a taxa de germinação e o crescimento das raízes são variáveis mensuráveis. Essas variáveis podem ser associadas com ensaios citogenéticos. No presente trabalho, essa associação foi positivamente observada. O índice mitótico apresentou o mesmo padrão de decréscimo evidenciado pelo crescimento radicular. Observou-se que as raízes tratadas com as diferentes concentrações de óleo apresentaram uma taxa menor de divisão celular. O índice mitótico é um parâmetro confiável para determinar a presença de compostos citotóxicos e a redução desse índice em tratamentos de raiz é, provavelmente, provocada por distúrbios no ciclo celular bem como na disfunção da cromatina, que podem ser induzidas por interações entre o DNA e os componentes tóxicos do óleo (Glinská et al., 2007).

Tabela 1 – Média do crescimento radicular e índice mitótico em alface após exposição ao óleo de pinhão manso.

TRATAMENTO	CRESCIMENTO	ÍNDICE MITÓTICO
Controle	8.53	8.69
22.5% óleo	5.77*	4.83 *
45% óleo	5.43*	6.38 *
67.5% óleo	5.43 *	4.95 *

*Significativamente diferente do controle de acordo com o teste Kruskal–Wallis ($p < 0.05$).

O efeito dos componentes químicos presentes na semente do pinhão manso tem sido estudados em diferentes pesquisas. Diversos estudos com animais, ruminantes (bovinos e caprinos) ou não (camundongos, ratos, frangos, peixe, humanos), demonstraram que as sementes são tóxicas, causadas por um grupo de substâncias chamado de ésteres de forbol. Em ruminantes foram testadas doses agudas de 2,5g sementes/Kg de peso do animal/dia e crônicas 0,025g sementes/Kg de peso do animal/dia por 14 dias e, que levaram todos os animais à morte. Os primeiros sinais foram de diarreia, dispnéia, desidratação e perda de condição geral, associados com alguns achados patológicos (Mendonça e Laviola 2009).

O bioensaio vegetal realizado no presente trabalho pode ser utilizado como alternativa para evitar a morte de animais nos testes realizados com variedades de *Jatropha curcas*. Muitas pesquisas têm sido realizadas na tentativa de detoxificar a torta do pinhão manso. Como resultado, as variedades que são criadas precisam ser testadas. Dessa forma, testes em raízes de alface demonstraram sensibilidade para detectar detoxificação ou não.

A transformação da torta de pinhão-manso em um produto atóxico que possa ser usado para alimentação animal despertou a atenção de diversos pesquisadores no mundo, tendo sido realizados alguns avanços nessa área. Em abril de 2010 foi publicado um estudo (Kumar et al., 2010), que alegou ter chegado a destoxificação da torta do pinhão manso, sendo a mesma testada em carpas.

Visando resolver o problema da toxidez na torta de *Jatropha curcas* e diminuir riscos de impactos ambientais e a valoração do co-produto na nutrição animal a Embrapa Agroenergia vem desenvolvendo pesquisas com várias estratégias. Uma delas refere-se à identificação de materiais genéticos cujos grãos não apresentem toxidez (éster de forbol) e a posterior incorporação desta característica em cultivares comerciais. Este fato evidencia que muitos testes ainda precisam ser realizados para detectar a presença de toxidez ou não.

Conclusões

Os testes realizados em sementes de alface demonstraram sensibilidade para detectar a toxidez em óleo de pinhão manso.

Os dados do presente trabalho podem auxiliar nos testes de toxicidade das sementes de diferentes variedades que estão sendo desenvolvidas de pinhão manso, com o propósito de evitar a morte de animais.

Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e a FAPES – Fundação de Apoio a Pesquisa no Espírito Santo, pelo suporte financeiro.

Literatura Citada

ANDRADE, L.F.; DAVIDE, L.C.;GEDRAITE, L.S. The effect of cyanide compounds, fluorides, aluminum and inorganic oxides present in Spent Pot Liner on germination and root tip cells of *Lactuca sativa*. *Ecotox. Environ. Saf.*, v.73, p.626-631, 2010.

GLINSKA, S.; BARTCZAKA, M.; OLEKSIKA, S.; WOLSKAA, A.; GABARAA, B.; POSMYKB, M.; JANASB, K..Effects of anthocyanin-rich extract from red cabbage leaves on meristematic cells of *Allium cepa* L. roots treated with heavy metals. *Ecotoxicol. Environ.Saf.*v.68, p.343–350, 2007.

KUMAR, V.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Dietary inclusion of detoxified *Jatropha curcas* kernel meal: effects on growth performance and metabolic efficiency in common carp, *Cyprinus carpio* L. *Fish. Physiology and Biochemistry*. doi: DOI 10.1007/s10695-010-9394-7

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mut. Res.* v.682, p.71–81, 2009.

MENDONÇA, S.; LAVIOLA, B.G. Uso Potencial e Toxidez da Torta de Pinhão-manso. Comunicado técnico. Brasília, DF, v.1, p.1-8, 2009.

VADILHO, G.; SUNI, M.; CANO, A. Viability and germination of seeds of *Puya raimondii* Harms (Bromeiaceae). *Rev. PeruBiol.* v.1, p.71–78, 2004.